

黄色ブドウ球菌毒素の宿主タンパク質阻害作用を応用した新規がん治療薬の創薬

名古屋市立大学大学院 薬学研究科 医療機能薬学専攻 衛生化学分野

講師 伊藤佐生智

【背景・目的】黄色ブドウ球菌毒素 Staphylococcal superantigen-like (SSL)は SSL1～SSL14 からなる黄色ブドウ球菌の外毒素ファミリーである。SSL はスーパー抗原と共通の立体構造を持ちながら、スーパー抗原活性は示さず、その機能は不明であった。私たちは SSL ファミリーの宿主側標的分子の探索を行い、6 種の SSL の標的分子を見出している。そのうち SSL5 が細胞外マトリクスを分解し、がんの浸潤に関与するマトリクスメタロプロテアーゼ 9 (MMP-9) の機能を阻害すること¹、SSL8 ががん細胞で発現が認められ、がんの転移にかかわる細胞外マトリクスタンパク質テネイシン C の機能を阻害すること²を見出した。SSL5 は TIMP など内因性プロテアーゼインヒビターと相同性を示さず、SSL5 による MMP-9 の阻害作用は新規のものであると考えられる。本研究は SSL5 の MMP-9 結合、機能阻害にかかわる領域を特定することで SSL 由来最小機能ペプチドを創製し、これを基にしたがん治療薬の創薬を行うことをすることを目的とする。

【方法】SSL5 は 6xHis あるいは GST 融合タンパク質として大腸菌で発現させ、精製した。また SSL5 の欠失変異体 (図 1) を作製し、同様に調製した。MMP-9 はブタ好中球よりゼラチンセファロースを用いて精製したもの、および 6xHis あるいは GST 融合タンパク質として大腸菌で発現させた組み換え体を使用した。SSL5 と MMP-9 の結合は、MMP-9 を固相化したプレートへ SSL5 の結合アッセイにより評価した。

【結果および考察】SSL5 の N 末端半分の OB-fold と C 末端半分の β -grasp の MMP-9 との結合性を評価したところ、SSL5 は SSL5 の N 末 OB-fold 領域により MMP-9 と結合することが示された。SSL5 の C 末端には糖鎖結合配列が存在しており、SSL5 はこの領域を介して糖タ

ンパク質と結合するが、MMP-9 結合活性はこの領域とは別の領域に担われていることが示された。さらに各種欠失変異体を作成し、MMP-9 の結合に関わる領域を絞り込んだ結果、を解析した結果、SSL5 (β 1-3) の領域に活性型 MMP-9 の結合領域が存在することが明らかになった。今回の解析により、SSL5 の MMP-9 結合領域を 32 アミノ酸残基まで絞り込むことができた。今後、この領域をペプチドとして調製し、MMP-9 の阻害活性、がん細胞の浸潤、血管新生に対する影響を解析し、新しい作用機序をもつ MMP-9 阻害薬の開発を目指す予定である。

【参考文献】

- 1) Itoh, S., Hamada, E., Kamoshida, G., Takeshita, K., Oku, T., and Tsuji, T. (2010) Staphylococcal superantigen-like protein 5 inhibits matrix metalloproteinase 9 from human neutrophils. *Infect Immun* **78**, 3298-3305
- 2) Itoh, S., Yamaoka, N., Kamoshida, G., Takii, T., Tsuji, T., Hayashi, H., and Onozaki, K. (2013) Staphylococcal superantigen-like protein 8 (SSL8) binds to tenascin C and inhibits tenascin C-fibronectin interaction and cell motility of keratinocytes. *Biochem Biophys Res Commun* **433**, 127-132

【図表】

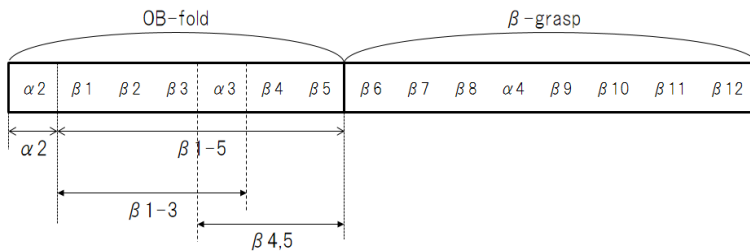


図1 SSL5 欠失変異体の構造. GST 融合タンパク質として調製した.

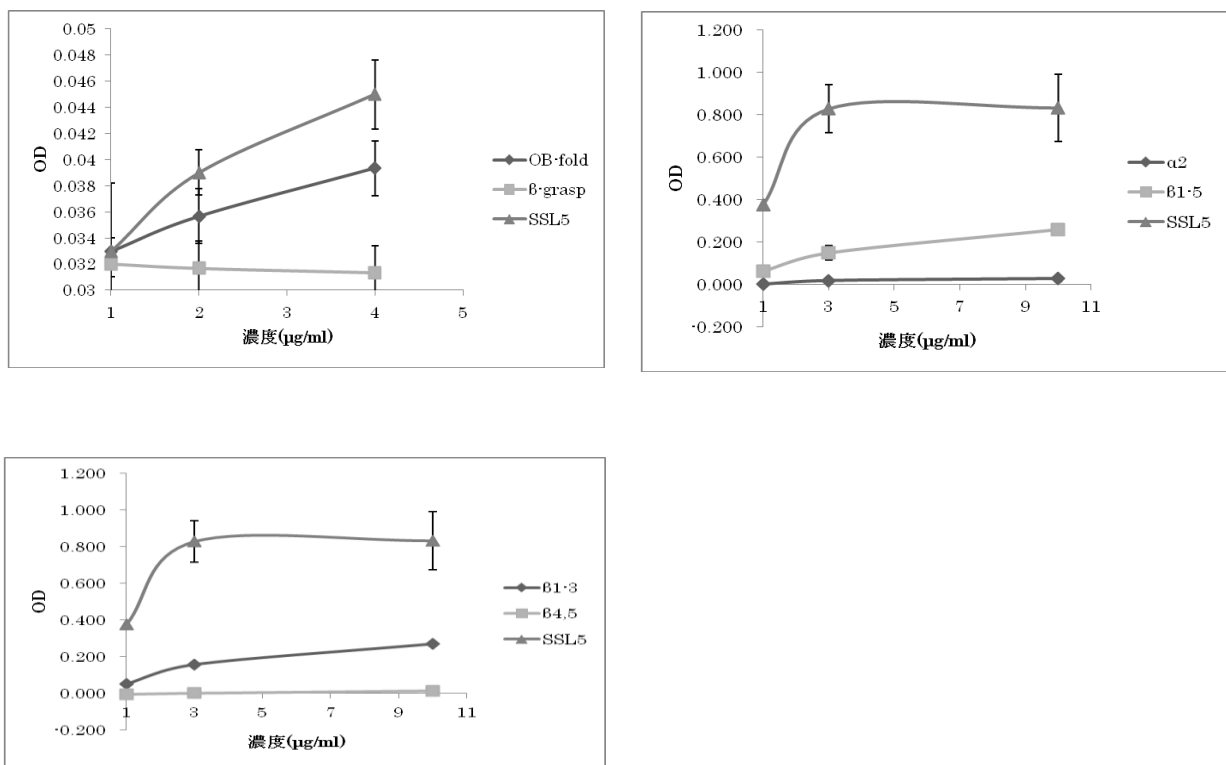


図2 SSL5 欠失変異体を用いた, SSL5 の MMP-9 結合部位の同定

研究実績報告書